https://doi.org/10.17116/molgen20213902114

Бактериальные биопленки: роль в хронических инфекционных процессах и поиск средств борьбы с ними

© Т.С. ИЛЬИНА, Ю.М. РОМАНОВА

ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Биопленки патогенных бактерий в организме инфицированного хозяина — сложные структуры, часто образуемые микроорганизмами разных видов. Они отличаются резистентностью к антибиотикам и другим антимикробным агентам, иммунным системам хозяина и неблагоприятным условиям окружающей среды, проявляют повышенную выживаемость и ответственны за большинство известных хронических инфекций, не поддающихся лечению антибиотиками. Такая ситуация потребовала активизации поиска альтернативных способов для борьбы с биопленочными инфекциями. В представленном обзоре рассматриваются наиболее перспективные разработки, направленные на разрушение бактериальных биопленок, вызывающих хронические заболевания.

Ключевые слова: *биопленки, хронические инфекции, резистентность биопленок, стратегии борьбы с биопленками, фаготерапия, белки фагов, антибиопленочные пептиды, фотодинамическая терапия.*

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:
Ильина Т.С. — https://orcid.org/0000-0003-0728-5427; e-mail: tamilailina@yandex.ru
Романова Ю.М. — https://orcid.org/0000-0002-8547-1711; e-mail: genes2007@yandex.ru
Автор, ответственный за переписку: Романова Ю.М. — e-mail: genes2007@yandex.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:
Ильина Т.С., Романова Ю.М. Бактериальные биопленки: роль в хронических инфекционных процессах и поиск средств борьбы с ними. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2021;39(2):14–24. https://doi.org/10.17116/molgen20213902114

Bacterial biofilms: their role in chronical infection processes and the means to combat them

© T.S. ILYINA, YU.M. ROMANOVA

N.F. Gamaleya Federal research Center for Epidemiology and Microbiology, Ministry of Public Health of Russia, Moscow, Russia

ABSTRACT

Biofilms of pathogenic bacteria in the body of an infected host are complex structures often formed by microorganisms of different species. They are resistant to antibiotics and other antimicrobial agents, host immune systems, and adverse environmental conditions, exhibit increased survival, and are responsible for most known chronic infections that cannot be treated with antibiotics. This situation has required an increased search for alternative ways to combat biofilm infections. This review examines the most promising developments aimed at destroying bacterial biofilms that cause chronic diseases.

Keywords: *biofilms, chronic infections, biofilm resistance, biofilm control strategies, phage therapy, phage proteins, antibiofilm peptides, photodynamic therapy.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:
Ilyina T.S. — https://orcid.org/0000-0003-0728-5427; e-mail: tamilailina@yandex.ru
Romanova Yu.M. — https://orcid.org/0000-0002-8547-1711; e-mail: genes2007@yandex.ru
Corresponding author: Romanova Yu.M. — e-mail: genes2007@yandex.ru

To CITE THIS ARTICLE:
Ilyina TS, Romanova YuM. Bacterial biofilms: their role in chronical infection processes and the means to combat them. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya (Molecular Genetics, Microbiology and Virology)*. 2021;39(2):14–24. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/molgen20213902114

До создания вакцин и антибиотиков человечество страдало от эпидемий острых инфекционных заболеваний, уносивших жизни миллионов людей. Однако и в наши дни отмечается тенденция к росту удельного веса инфекций в общей массе заболеваемости. Растет количество случаев хорошо известных инфекций, описаны новые инфекционные заболевания. Значительная их часть приходится на долю хронических инфекций, причем более половины — у людей с ослабленной иммунной системой, у которых заболевания вызываются инфекционными агентами, вполне обычными для окружающей среды человека,

например, бактериями *P. aeruginosa,* обитающими повсеместно. Сравнительно недавно было установлено, что один из механизмов хронического инфекционного процесса связан с образованием бактериями биопленок.

Согласно современным представлениям, биопленка (англ. biofilm) — это структурно организованное сообщество микроорганизмов, заключенное внутри полимерного матрикса, синтезированного членами сообщества, и прикрепленное к живым или инертным поверхностям. Для биопленок характерными чертами являются структурная гетерогенность, генетическое разнообразие (биопленку могут образовать представители разных видов микроорганизмов, включая бактерии, простейшие, грибы и водоросли), сложные регуляторные механизмы, контролирующие «общественные взаимоотношения» внутри сообщества, и наличие внеклеточного экзополимерного матрикса (EPS), образуемого из полисахаридов, белков, липидов и нуклеиновых кислот (РНК и внеклеточной ДНК, еДНК). Матрикс защищает микроорганизмы от факторов внешнего воздействия, будь то факторы внешней среды или факторы иммунной защиты организма.

Термин «биопленка» (biofilm) был введен известным американским исследователем J. Costerton, положившим начало интенсивным исследованиям этого феномена [1].

Значение биопленочных инфекций очень велико. Многие хронические инфекции (легочные, ушные, раневые), а также инфекции, возникновение которых связано с использованием медицинского имплантируемого оборудования — линз, катетеров, протезов, искусственных клапанов сердца — обусловлены бактериями, растущими в виде биопленок [2—4]. Среди более чем 60 тыс. пациентов с кистозным фиброзом (КФ) в развитых западных странах почти у 80% развивается хроническая инфекция легких. У пациентов с хроническими раневыми инфекциями около 60% случаев заболеваний связано с образованием биопленок. У пациентов с ортопедическими аллопластическими заменами в 2% случаев хронические инфекции развиваются в течение первых 2 лет после операции. Колонизация бактерий у пациентов с внутривенными катетерами, эндотрахеальными трубками, с уретральными катетерами наблюдается в течение первых 10—14 дней после их установления. По имеющимся данным, более 80% инфекций связаны с бактериальными биопленками, и их трудно диагностировать и лечить [5].

За более чем 30-летнее изучение биопленок с использованием современных методов (электронно-микроскопических, микробиологических и молекулярно-генетических) установлены поэтапные процессы их формирования, регуляторные механизмы перехода бактерий из планктонного состояния в биопленочное, механизмы повышенной резистентности к антимикробным препаратам. Этим вопросам посвящен ряд опубликованных обзоров [6—9].

Бактерии в биопленках значительно более устойчивы к антибиотикам, иммунным системам хозяина, бактериофагам и многим неблагоприятным факторам, чем планктонные клетки [10—12]. Механизмы такой устойчивости различны, и в их основе лежат структурные особенности организации биопленок.

Антибиотики, являющиеся основным средством лечения бактериальных инфекций, практически неэффективны в борьбе с микробами, растущими в виде биопленок. До настоящего времени не было найдено ни одного антибиотика для использования против биопленок. Устойчивость бактерий к антибиотикам растет, но биопленочная множественная лекарственная резистентность превосходит этот рост. Поэтому поиск альтернативных средств борьбы с возбудителями, способными к образованию биопленок, является в настоящее время актуальной медицинской проблемой.

Здесь мы рассматриваем ряд подходов, ориентированных на уничтожение биопленок, включая недавно разработанные стратегии и перспективные антибиопленочные агенты.

Бактериальные биопленки и хронические инфекции человека

На **рис. 1** показаны заболевания, вызываемые патогенными микроорганизмами, образующими биопленки в организме человека.

Биопленочные инфекции могут быть разделены на 2 группы:

1-я группа включает инфекции, при которых биопленки колонизируют оборудование, имплантируемое внутрь тела, или формируют связь между наружной или внутренней поверхностью тела, где соприкасаются нормальная флора, флора окружающей среды и стерильная анатомическая часть внутри тела. Эта группа включает инфекции, связанные с ортопедическим аллопластическим оборудованием, эндотрахеальными трубками, внутривенными катетерами, урологическими катетерами и различными имплантами. Собственно, с обнаружения этой группы инфекций и началось интенсивное исследование биопленок как причины хронических инфекций.

Вторая группа — это инфекции, при которых биопленки не связаны с инородными телами и могут быть в тканях или мышцах, и инфекции, где биопленки развиваются на метаболических образованиях в организме пациента — печеночных или почечных камнях. Эта группа включает и пациентов с наследственным заболеванием — кистозным фиброзом (КФ), при котором биопленки обнаруживаются в тканях легких, а также в мокроте таких пациентов, что сопровождается тяжелыми пневмониями и часто приводит к летальным исходам [13].

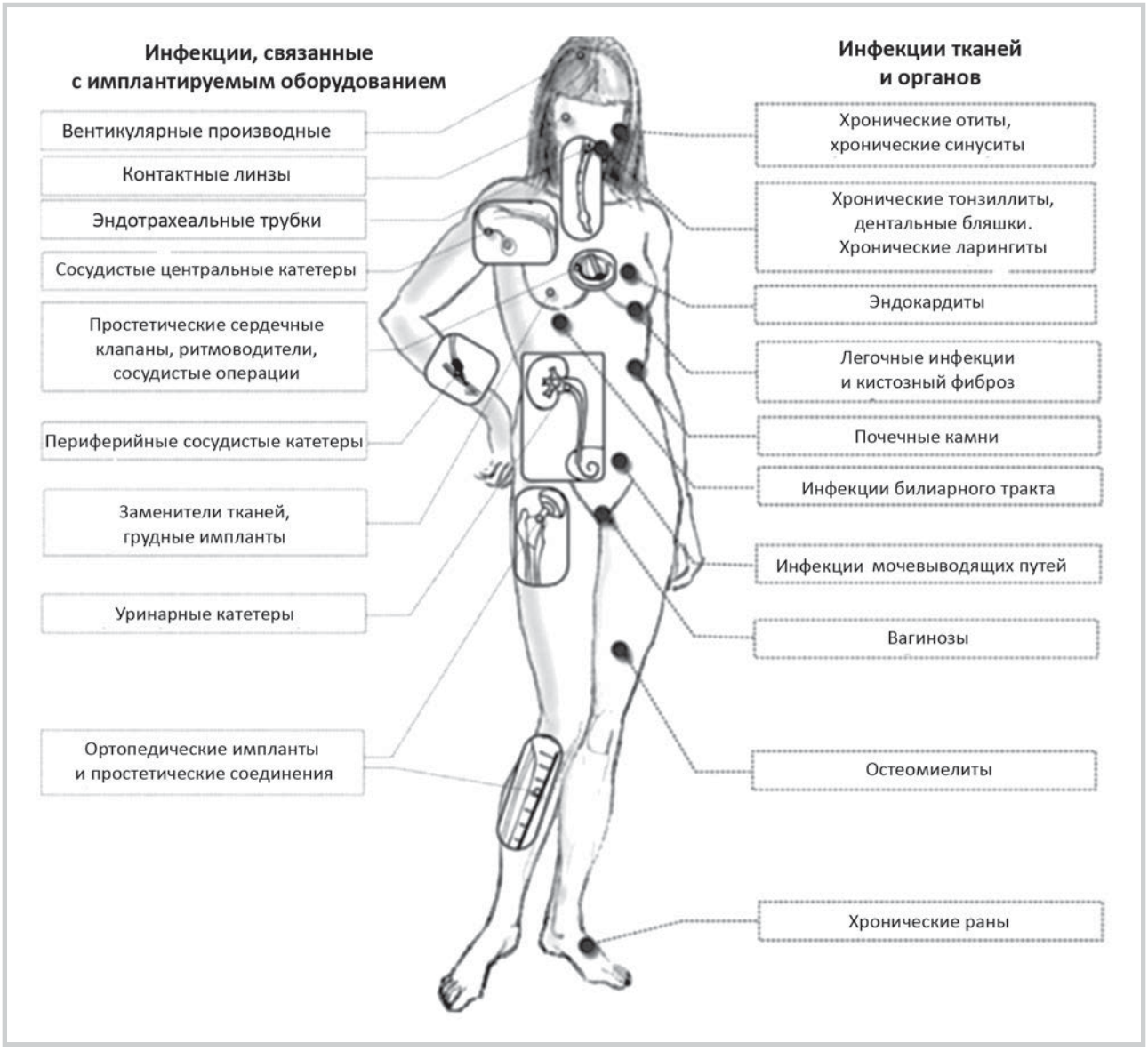


Рис. 1. **Инфекции, связанные со способностью бактерий формировать биопленки (приводится по [13]).**

Механизмы резистентности биопленок

Основной проблемой инфекционной патологии, связанной со способностью бактерий формировать биопленки, является их резистентность к лекарственным препаратам и иммунным системам инфицируемого хозяина, значительно превышающая таковую у их планктонных сородичей. Многочисленные исследования показали, что целый ряд причин обусловливает повышенную устойчивость биопленочных бактерий. Одной из важнейших причин резистентности к антибиотикам является наличие матрикса, затрудняющего проникновение антимикробных агентов в биопленки. Он также защищает бактерии биопленок от лейкоцитов человека [14—16]. Матрикс — это важнейший компонент биопленки, составляющий 85% ее объема. Он способен динамически модулировать доставку клеткам, находящимся внутри биопленки, питательных веществ и кислорода. Это приводит к замедлению роста и деления бактерий, что делает эти бактерии менее чувствительными к антибиотикам по сравнению с быстро делящимися клетками. Наряду с этим в биопленках всегда имеется небольшая субпопуляция клеток, получивших название персистеров (от persistence), или дремлющих (dormant) [17, 18].

Была показана прямая связь между присутствием клеток-персистеров и хронической природой различных бактериальных инфекций [17, 18]. Из-за того, что скорость роста персистеров чрезвычайно низкая или равна нулю, они становятся толерантными почти ко всем антибиотикам без изменения генетической структуры [19—22]. После прекращения действия антибиотиков и дисперсии биопленки сохранившиеся неповрежденными клетки персистеров

способны восстанавливать свой инфекционный потенциал и обеспечивать новые раунды образования биопленок. Актуальным примером существования *in vivo* персистентных форм является латентная форма туберкулеза: по данным ВОЗ, около 25% населения Земли латентно инфицированы возбудителем туберкулеза, живя с постоянным риском перехода латентной формы в активную, который случается у 5% инфицированных. Латентная форма инфекции поддерживается клетками-персистерами *Mycobacterium tuberculosis* (данные ВОЗ, 2019 г.).

Недавно получены доказательства, что среди персистеров обнаруживаются также варианты с генетически обусловленной резистентностью. Их появление объясняется либо горизонтальным переносом генов резистентности при тесном контакте бактериальных клеток разных видов в биопленках, либо возникновением мутаций резистентности к антибиотикам [18, 20]. Как показано, более высокая частота мутирования в биопленках по сравнению с планктонными клетками, обнаруженная у *P. aeruginosa* и *S. aureus*, зависит от более высокого уровня окислительного стресса в биопленках [21], а возрастание частоты горизонтального переноса генов — от повышенной стабильности плазмид и мобильных генетических элементов в условиях биопленочного существования бактерий [22].

Стратегии борьбы с биопленками

С тех пор как была установлена непосредственная связь между образованием бактериальных биопленок, характеризующихся множественной резистентностью, и хроническими заболеваниями [11, 12, 23], современная медицина столкнулась с проблемой поиска средств борьбы с ними [24].

Существуют 2 возможных способа воздействия на биопленки: первый предотвращает формирование биопленки, второй связан с удалением уже сформированной биопленки. На **рис. 2** представлены этапы процесса формирования биопленок и те подходы, которые разрабатываются в настоящее время для борьбы с хроническими инфекциями, связанными с образованием бактериальных биопленок.

Для предотвращения формирования биопленки должны быть нарушены ранние стадии процесса формирования — прикрепление (адгезия) планктонных клеток и образование микроколоний. Использовали неспецифические способы ингибирования процессов адгезии, например, изменение поверхности прикрепления бактерий в случае использования катетеров, клапанов, имплантов и др., и специфические методы воздействия на адгезины с использованием молекул, вмешивающихся в процессы биогенеза адгезинов или колонизации хозяина [10, 23—25].

QS (Quorum Sensing) и c-di-GMP (cycle diguanilate) — 2 системы регуляции, влияющие на 2 разных компонента бактериальных биопленок — полисахариды и внеклеточную ДНК. Участие системы регуляции QS в контроле образования биопленки и вирулентности явилось основанием для ее использования в качестве мишени при поиске соединений, способных подавлять QS (QSI) [10, 26, 27].

Вмешательство в сигнальные системы QS, разрушение еДНК, белков, липополисахаридов, EPS и вторичных мессенджер-молекул составляют тот ряд механизмов, которые были использованы в качестве мишеней в поиске средств подавления развития или разрушения биопленок [27—29]. Описан ряд химических соединений, природных и синтетических, подавляющих систему QS, ингибиторов QS (QSI). К ним относятся ферменты, такие как лактоназы, амидазы, редуктазы, цитохромоксидазы, деградирующие QS в результате модификации аутоиндукторов (гомосерин лактоны, AI-2, пептиды).

Другую группу составляют природные соединения, такие как производные фенола и индола, алкалоиды, фураноны, лактоны, ацетальдегиды. В третью группу вошли синтетические аналоги сигнальных молекул QS (макролиды, азитромицин, фуранил гидразид, циклогексанон) и аналоги лактона [25—27].

Антибиопленочные вещества природного происхождения вместе с синтетическими аналогами и антибиотиками также используются для подавления образования биопленок при лечении бактериальных инфекций, вызванных гетерогенными биопленками [30]. Известны также пептиды природного или генно-инженерного происхождения, эффективно вызывающие дисперсию биопленок.

Одним из перспективных способов борьбы с биопленками является нарушение структурной целостности и дезорганизация биопленки с последующим высвобождением бактерий, доступных для антибактериального воздействия (биоцидные препараты, антибиотики). С этой целью применяют ферменты, способные разрушать полисахариды матрикса. Высвобождаемые от протективного барьера бактерии в последующем могут быть уничтожены. В нашей лаборатории были продемонстрированы возможности ферментов из группы карбогидраз, расщепляющих О-гликозидные связи, и тем самым разрушающих полисахариды матрикса биопленки, что приводит к освобождению клеток из состава биопленки [31].

Важная роль другой системы регуляции, молекул C-di-GMP, в переключении образа жизни бактерий от планктонного к биопленочному также обусловила ее использование в качестве мишеней в поиске средств борьбы с биопленочными инфекциями. Проверка эффективности разных химических соединений дала возможность идентифицировать ингибиторы ферментов, дигуанилат циклаз (синтез) и фосфодиэстераз (распад), контролирующих уровни образующегося c-di-GMP, применение которых позволяло снизить эффективность процесса формирования биопленок [32]. Так, c-di-GMP и c-di-AMP

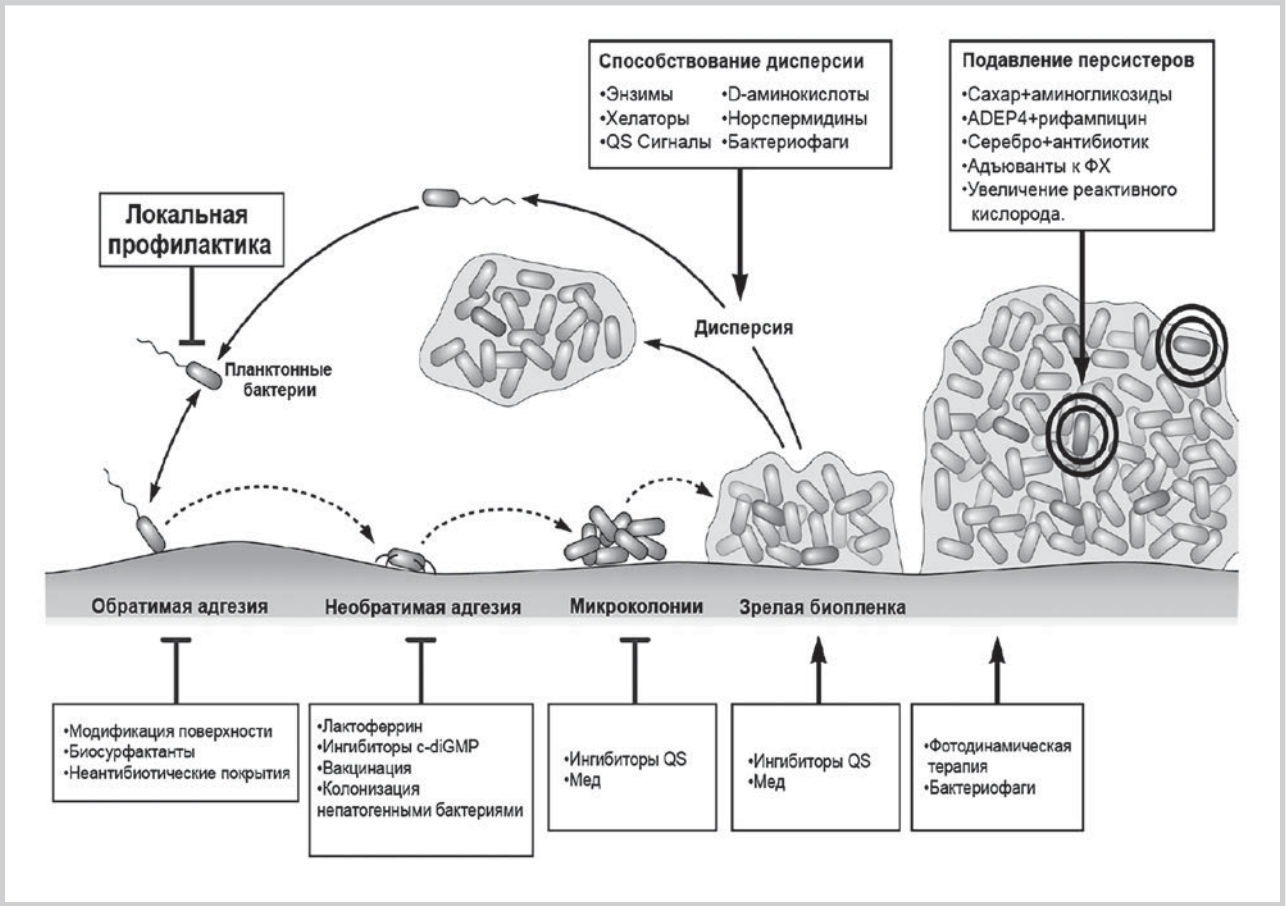


Рис. 2. **Стратегия борьбы с биопленками, основанная на фундаментальных исследованиях процесса их образования (приводится по [23]).**

контролируют различные EPS-продуцирующие экзоферменты, полисахариды и адгезины, которые также могут служить мишенями для подавления или разрушения EPS [33—36].

Непосредственное воздействие на компоненты матрикса использовали при поиске средств, приводящих к уменьшению образования биопленок. Были разработаны эффективные способы деградации этих компонентов *in vivo* и *in vitro* с помощью ферментов, ДНКазы I и дисперсина B, продуцируемого *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Эти соединения вызывают деградацию еДНК и гидролиз матриксной молекулы адгезии, поли-N-ацетилглюкозоамина (компонента экзополисахаридов *E. coli*, *S. aureus*, S. *epidermidis*), и способствуют проникновению антибиотиков [6, 13, 23].

Одной из причин резистентности к различным антимикробным воздействиям у биопленок является образование в их составе неметаболизирующих клеток-персистеров [17, 18]. Популяция таких клеток способна выживать при обработке высокими дозами антибиотиков, а после прекращения их действия возвращаться к обычному фенотипу и восстанавливать рост. Персистеры идентифицированы у каждого патогена и являются ответственными за неподдающиеся излечиванию хронические инфекции. Ряд исследований был направлен на поиск средств борьбы с персистерами внутри биопленок и было, в частности, показано, что соединения, подобные цис-деценовой кислоте, вызывают 3000-кратное уменьшение в числе клеток персистеров у оппортунистического патогена *P. aeruginosa* в планктонной культуре и миллионкратное уменьшение в числе персистеров в биопленке [37, 38]. Митомицин С и цисплатин также способны элиминировать персистеры как в суспензиях, так и в биопленках [38, 39].

Некоторые соединения способны удалять биопленки и убивать клетки персистеров, как например, галогенизированные феназины, удаляющие биопленки *S. aureus*, а также убивающие их персистерные клетки [40]. Несмотря на то что в лабораторных разработках была показана эффективность многих соединений против биопленок и персистеров, лишь некоторые из них прошли клинические испытания и оказались терапевтически перспективными.

Фаготерапия

В последнее десятилетие наблюдается бурное возрождение интереса к фаговой терапии. Исследова-

ния в этой области ведутся во многих научных коллективах с привлечением современных молекулярно-генетических технологий. Традиционно фаговая терапия основывается на использовании распространенных в природе фагов для инфицирования и лизиса бактерий в сайте инфекции. Разработка биотехнологических методов позволяет в настоящее время расширить возможности фаговой терапии за счет создания биоинженерных бактериофагов и использования очищенных литических белков фагов. Проведенные исследования по использованию таких фагов и их литических белков при лечении инфекций, специфически вызванных множественно устойчивыми к лекарственным препаратам бактериями, показали, что фаговая терапия может быть эффективной и как альтернатива, и как дополнение при лечении антибиотиками [41].

Преимущества фаговой терапии: 1) высокая специфичность фагов в отношении хозяина, в результате которой не происходит повреждение нормальной окружающей флоры; 2) фаги не инфицируют эукариотические клетки; 3) самоограничение: после гибели хозяина фаг прекращает функционирование; 4) возможность применения в терапии низких доз бактериофагов, способных быстро размножаться в клетках бактериальных хозяев; 5) фаги эволюционируют вместе с бактериями; 6) фаги активны против бактериальных биопленок. Ряд исследований, проведенных в последние годы *in vitro* и *in vivo*, продемонстрировали эффективность фагов в качестве антимикробных агентов против биопленок многих патогенных бактерий [42].

Фаговая терапия имеет и некоторые ограничения. Так, высокая специфичность фагов в отношении хозяина требует обязательной проверки *in vitro* чувствительности к используемому фагу бактерий, вызвавших инфекцию. Чтобы не тратить время на такую проверку, было предложено использовать фаговые коктейли, в состав которых включали комбинации бактериофагов, действующих против бактерий разных штаммов или видов [43].

Очень важно при составлении коктейлей иметь геномные характеристики фагов, которые дают возможность оценить безопасность терапевтического применения фагов, потому как фаги могут нести гены вирулентности или лекарственной резистентности. Поскольку в биопленках создаются условия для более частого осуществления горизонтального переноса генов между ДНК фага и бактерии, внесение в клетки бактерий таких генов в составе фаговой ДНК может привести к появлению как более вирулентных, так и более резистентных к антибиотикам вариантов микробов. Фаги также не должны содержать в своих геномах генов ферментов (рекомбиназ, интеграз), с помощью которых могут осуществляться рекомбинационные события [43—45]. Из сказанного следует, что составление эффективных и безвредных коктейлей — непростая задача.

В литературе описаны результаты эффективного применения фаговых коктейлей для уничтожения биопленок. Коммерческие фаговые коктейли успешно применялись против различных клинических изолятов патогенных бактерий, таких как *P. aeruginosa*, *S. aureus* и др. В ряде случаев описано применение комбинаций фаговой и лекарственной терапии против инфекций с получением синергидных эффектов. Например, применение коктейля из природных литических бактериофагов, PP1131, включающего 12 литических в отношении *P. aeruginosa* фагов, давало синергидный эффект в комбинации с ципрофлоксацином при лечении больных с эндокардитом. Подобный эффект описан также при совместном применении фага и одного из традиционных антибиотиков (меропенема, ципрофлоксацина или колистина) против множественно резистентных бактерий *A. baumannii* [46—49].

Несмотря на то что фаговая терапия уже доказала возможность ее клинического внедрения, ее широкое применение ограничивается рядом проблем, среди которых одна определяется недостаточным количеством опубликованных работ с точным описанием результатов клинических испытаний и вторая — это производственные трудности.

Более перспективными на сегодняшний день являются антимикробные препараты, основанные на фаговых ферментах, таких как лизины, которые способны давать предсказуемые результаты. Особенно большой интерес с точки зрения разработки терапевтических антимикробных агентов представляют ферменты литических фагов с широкой бактерицидной активностью.

Белки фагов. Фаговые геномы кодируют белки и ферменты, необходимые для осуществления жизненного цикла фага во время инфекции бактериальной клетки. Для адсорбции фага и введения в бактериальную клетку фаговой ДНК (или РНК) обычно необходимы связанные с вирионом пептидогликан-гидролазы (VAPGH) и полисахарид-деполимеразы [50]. VAPGH являются структурными компонентами вируса, которые расположены на структурной подложке фаговых частиц и действуют локально, деградируя слой пептидогликана, в результате чего открывается возможность переноса генетического материала в клетку хозяина. Другие основные белки, кодируемые фагом, деполимеразы, действуют на полисахаридные компоненты клеточных оболочек бактерий (капсулы, липополисахариды грамотрицательных бактерий) или внеклеточный матрикс биопленок. Деполимеразы облегчают доступ к вторичным рецепторам бактерий, расположенным на клеточной стенке и эффективно деградируют биопленочные структуры [51].

Капсулы и биопленочные структуры бактерий являются важными детерминантами вирулентности,

блокирующими действие иммунных систем инфицируемого организма, антибиотиков, различных дезинфектантов. Использование фаговых деполимераз для удаления этих структур представляет собой один из возможных подходов в лечении инфекционных заболеваний.

Примеры использования деполимераз. В ряде работ показана роль деполимераз в механизме синергизма между фагами, антибиотиками и иммунными системами инфицированного организма. Так, в работе M. Bedi и соавт. [52] продемонстрирован эффект синергизма при действии монофаговой терапии и амоксициклина, приведший к уничтожению биопленок *Klebsiella pneumoniae*, который авторы объясняли действием деполимеразы, разрушившей внеклеточный матрикс биопленки и обеспечившей проникновение антибиотика и частиц фага. Другая группа авторов [53] показала, как удаление с помощью деполимеразы фага капсул клеток *E. coli* K1, вызывающей неонатальный менингит, увеличивало фагоцитарное действие макрофагов и защищало от бактериемии подопытных крыс.

К концу литического цикла фаги используют другой набор ферментов, участвующих в лизисе клеток бактерий и высвобождении потомства, холины и эндолизины. Так как холины не способны самостоятельно лизировать клетки, интерес при поиске средств борьбы с патогенными бактериями представляли эндолизины. Природная способность этих ферментов лизировать клеточную стенку бактерий определила возможность их использования в качестве антимикробных агентов. Большинство сообщений о применении их в этом качестве касалось грамположительных бактерий. Это объяснялось тем, что внешняя мембрана грамотрицательных бактерий действует как барьер для этих ферментов. В настоящее время применяются тактики обхода этого препятствия с помощью химических веществ, таких как полимиксины, аминогликозиды или хелатирующие средства, например, ЭДТА [54, 55], и биоинженерии эндолизинов. Одним из примеров биоинженерии может служить создание артилизина путем добавления поликатионных олигопептидов к эндолизину, в результате которого фермент приобретает способность нарушать внешнюю мембрану и убивать грамотрицательных возбудителей множественно резистентных клеток *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, с уменьшением на 4—5 log *in vitro* в течение 30 мин [56]. Одним из перспективных направлений, связанных с эндолизинами, является их применение против стафилококковых кожных и носовых инфекций, вызванных в том числе и штаммами *S. aureus* MRSA [57]. Ряд исследований на мышиных моделях показал эффективность лизинов при инфекциях верхних дыхательных путей, вызванных стрептококками, при септицемии у мышей, вызванной *S. aureus*, при лечении дисбиоза кожи, вызванном у людей избыточным ростом *S. aureus* [57, 58]. В последние годы стала развиваться биоинженерия фагов с целью увеличения их терапевтического потенциала, включая расширение круга хозяев, доставку чужеродных генов, модификацию производимых фагом продуктов. Так был расширен круг хозяев фага T2 *E. coli* путем включения генов хвостового отростка другого фага, IP008, с помощью гомологичной рекомбинации с сохранением высокой литической активности фага T2 [59]. Модифицированный фаг T7 *E. coli*, экспрессирующий фермент дисперсин B, разлагает один из ключевых компонентов бактериальных биопленок, что приводит к значительному сокращению клеток в биопленках [60]. Биоинженерные фаги используются также для доставки антибиотиков в клетки бактерий или фотосенсибилизаторов к целевым бактериям, превращая их в восприимчивые к фотодинамической инактивации [61—63].

Антибиопленочные пептиды в терапии. Антимикробные пептиды (AMP) — это короткие, положительно заряженные олигопептиды, защищающие хозяина, продуцируемые живыми организмами — простейшими, бактериями, архебактериями, грибами, растениями и животными [64]. Они обладают широким спектром действия против различных патогенных бактерий. Способность пептидов взаимодействовать с мембранами бактериальных клеток и вызывать лизис клеток делает их перспективными антимикробными агентами, уничтожающими наряду с другими множественно резистентными к антибиотикам бактериями и биопленки [65]. В отличие от традиционных антибиотиков AMP физически повреждают бактериальные клетки, что исключает возможность образования резистентных к их действию клеток [66]. Важным преимуществом AMP является также их способность действовать как на медленно растущие, так и на нерастущие клетки, которые, главным образом, ответственны за резистентность биопленочных сообществ к антибиотикам.

Одним из первых катионных пептидов был низин, обнаруженный в 1928 г. у *Lactobacillus lactis* [67—69]. Полилизин, выделенный из *Streptomyces album* 341, коммерчески используется для защиты пищевой продукции. AMP млекопитающих обычно экспрессируются на поверхности эпителия для защиты его от бактерий, вирусов и грибов. Они обладают рядом механизмов действия в отношении резистентности бактерий.

В настоящее время множество природных и биоинженерных AMP использовано в исследованиях *in vitro* и *in vivo* и показано, что они обладают антимикробными, антибиопленочными и противовоспалительными активностями [69, 70]. Однако лишь немногие из них, такие как ванкомицин, телавинцин, телапревир, диптомицин и др. получили допуск к клиническому применению из-за цитотоксичности в отношении клеток млекопитающих, де-

градации тканевыми протеазами, потери активности при низких концентрациях солей или в присутствии белков плазмы [68, 71]. Эти проблемы решаются сейчас с помощью структурной модификации пептидов, введения пептидных миметиков, сочетания пептидов с антибиотиками, наночастицами [72].

Природные АМР стали недавно применять в качестве шаблонов, для создания синтетических пептидов [73]. Модификацию их биологических функций и размеров проводили с целью оптимизации их антибиопленочной активности. Использовали разные приемы — получение делеций, аминокислотных замен, циклизацию, включение ретро-инверсных пептидов и аминокислот, уменьшение длины пептидов [55, 74].

Антибиопленочные пептиды могут быть синтезированы как гибриды. Известные гибридные пептиды имели по сравнению с родительскими пептидами повышенную антибактериальную и антибиопленочную активности и отличались более широким спектром действия без гемолитической активности. Сообщалось об успешном применении гибридных пептидов против *Acinetobacter baumannii* и *Candida albicans* [68, 75].

Антибактериальная фотодинамическая терапия (АФДТ). Фотосенсибилизированная инактивация микроорганизмов и ее практическое приложение — АФДТ — основаны на использовании возможностей современной фотохимии. Суть метода состоит в том, что антимикробные агенты — фотосенсибилизаторы (ФС) при воздействии видимого или инфракрасного света с длинами волн, соответствующими спектру их поглощения, генерируют образование цитотоксических активных форм кислорода (преимущественно синглетного кислорода) и свободных радикалов, вызывающих окислительную деструкцию жизнеобеспечивающих структур микробных клеток. В отличие от антибиотиков, каждый из которых специфически воздействует на определенную мишень в микробной клетке — клеточную стенку, цитоплазматическую мембрану, репликацию ДНК, транскрипцию или трансляцию белков, генерируемые ФС активные формы кислорода вызывают окислительное повреждение компонентов как липидной, так и белковой природы, а также нуклеиновых кислот [76]. Считается, что такой множественный окислительный характер повреждений клеточных компонентов препятствует развитию устойчивости к АФДТ, в связи с чем этот метод рассматривается как перспективный способ борьбы с возбудителями заболеваний, устойчивыми к действию традиционных лекарственных препаратов. К настоящему времени появляется все больше публикаций, в которых представлены данные по исследованию антимикробной фотодинамической инактивации (АФДИ) *in vitro* микробных клеток или вирусов. В качестве фотосенсибилизаторов используется широкий ряд соединений, включая порфирины, хлорины, бактериохлорины, фталоцианины, фенотиазины, активирующиеся под действием света определенной длины волны [77]. Для большей эффективности этих соединений, их атоксигенности для эукариотических клеток в последние годы предпринимаются попытки объединения их с катионными полимерами, наночастицами, неорганическими солями [78, 79].

Метод АФДТ может быть особенно эффективен в отношении заболеваний, связанных с образованием биопленок микроорганизмами, которые часто расположены локально в различных полостях организма больного и могут быть доступны с помощью оптоволоконной техники (длительно незаживающие осложненные раны кожи и слизистых, трофические язвы, пролежни, язвы диабетических стоп, хронические инфекции мочевыводящих путей, в том числе катетер-ассоциированные, обрастания интубационных трубок, эндопротезов). Наиболее частыми возбудителями инфекций, связанных с образованием биопленок, являются представители родов *Enterococcus, Staphylococcus, Klebsiella, Acinetobacter, Pseudomonas* и *Enterobacter,* которые объединены в группу акронимом ESKAPE [72]. Эта группа включает представителей 6 нозокомиальных патогенов, которые характеризуются множественной антибиотикорезистентностью и вирулентностью — *Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter* spp. Эти патогены ответственны за большинство госпитальных инфекций и устойчивы к воздействию антимикробных агентов. Результаты проведенных в последнее время исследований свидетельствуют о том, что возбудители таких заболеваний обладают чувствительностью к фотодинамической терапии [80, 81].

Показано, что АФДТ более эффективна в отношении грамположительных бактерий, например, *Staphylococcus aureus,* и менее — в отношении грамотрицательных — *Klebsiella pneumoniae и Pseudomonas aeruginosa,* что обусловлено различиями в строении клеточной стенки [82]. Проблема заключается в том, что бактериальные биопленки, вызывающие хронические заболевания, обычно состоят как из грамотрицательных, так и грамположительных видов бактерий. Поэтому для создания стратегии антибактериальной фотодинамической терапии одной из важнейших задач является исследование структурных особенностей бактериальных сообществ, влияющих на чувствительность к фотодинамическому воздействию, и выработка оптимальных подходов и средств для проведения антибактериальной фотодинамической терапии хронических заболеваний. Научная значимость решения проблемы состоит в установлении взаимосвязи эффективности фотодинамической инактивации с конкретными свойствами и особенностями патогенных микроорганизмов, входящих в сложные

мультивидовые биопленки, и создание новых фотодинамических агентов для их эффективной инактивации. Тем не менее, в различных лабораторных моделях при бактериальных и микобактериальных инфекциях у животных [81, 83], в клинической ветеринарной практике, инфекциях полости рта [84] и лечении хронических ран [85] продемонстрировано, что антимикробная фотодинамическая терапия является многообещающей технологией борьбы с хроническими инфекциями.

Финансирование отсутствует. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов.

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Costerton JW, Cheng KJ, Greesey GG. Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu Rev Microbiol.* 1987;41:435-464. https://doi.org/10.1146/annurev.mi.41.100187.002251
2. Costerton JW, Geesey GG, Cheng KJ. How bacteria stick. *Sci Am* 1978;238(1):86-95. https://doi.org/10.1038/scientificamerican0178-86
3. Jamal M, Ahmad W, Andleeb S, Jalil F, Imran M, Nawaz MA, et al. Bacterial biofilm and associated infections. *J Chin Med Assoc.* 2018;81:7-11. Epub 2017. https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.07.012
4. Hall MR, Mc Gillicuddi E, Kaplan LJ. Biofilm: basic principles, pathophysiology, and implications for clinicians. *Surg Infect (Larchmt.).* 2014;15(1):1-7. Epub 2014 Jan 29. https://doi.org/10.1089/sur.2012.129
5. Fux CA, Costerton JW, Stewart PS, Stoodley P. Survival strategies of infectious biofilms. *Trends Microbiol.* 2005;13(1):34-40. https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.11.010
6. Rabin H, Zheng Y, Opoko-Temeng C, Du Y, Bonsu E, Sintim OS. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Med Chem.* 2015;7(4):493-512. Epub 2015 Dec 3. https://doi.org/10.1016/j.jcf.2015.11.004
7. Saxena P, Joshi Y, Rawat K, Bisht R. Biofilms: architecture, resistance, Quorum Sensing and control mechanisms. *Indian J Microbiol.* 2019;59(1):3-12. Epub 2018 Aug 21. https://doi.org/10.1007/s12088-018-0757-6
8. Kumar A, Alam A, Rany M, Ehtesham NZ, Hasnain SE. Biofilms: survival and defense strategy for pathogens. *Int J Med Microbiol.* 2017;307(iss.8):481-489.
9. Flemming H-C, Wingender J, Szewzyk U, Steinberg P, Rice SA, Kjelleberg S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14:563. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.94
10. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nat Rev Drug Discov.* 2003;2(2):114-122. https://doi.org/10.1038/nrd1008
11. Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol.* 1995;49(1):711-745. https://doi.org/10.1146/annurev.mi.49.100195.003431
12. Nickel JC, Ruseska I, Wright JB, Costerton JW. Tobramycin Resistance of Pseudomonas aeruginosa cells growing as a biofilm on urinary catheter material. *Antimicrob Agents Chemother.* 1985;27(4):619-624. https://doi.org/10.1128/aac.27.4.619
13. Lebeaux D, Chauhan A, Rendueles O, Beloin C. From in vitro to in vivo models of bacterial biofilm-related infections. *Pathogens.* 2013;2:288-356. mdpi.com/2076-0817/2/2/288. https://doi.org/10.3390/pathogens2020288
14. Hall CW, Mah T-F. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol Rev.* 2017;41:276-301. https://doi.org/10.1093/femsre/fux010
15. Jakobsen TH, Tolker-Nielsen T, Givskov M. Bacterial biofilm control by perturbation of bacterial signaling processes. *Int J Mol Sci.* 2017;18:1970. https://doi.org/10.3390/ijms18091970
16. Flemming HC, Neu TR, Worniak DJ. The EPS matrix: the «house of biofilm cells». *J Bacteriol.* 2007;189(22):7945-7947. Epub 2007 Aug 3. https://doi.org/10.1128/JB.00858-07
17. Lewis K. Persistent cells, dormancy and infectious disease. *Nat Rev Microbiol.* 2007;5(1):48-45. https://doi.org/10.1186/s40425-017-0310-x
18. Fischer RA, Gollan B, Helaine S. Persister bacterial infections and persister cells. *Nat Rev Microbiol.* 2017;15:453-464. Epub 2017 May 22. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.42
19. Keren I, Shah D, Spoering A, Kaldalu N, Lewis K. Spezialized persister cells and the mechanism of multidrug tolerance in Escherichia coli. *J Bacteriol.* 2004;186(24):8172-8180. https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00856-5
20. Defraine V, Fauwart M, Michiels J. Fighting bacterial persistence: current and emerging anti-persister strategies and therapeutics. *Drug Resist Updat.* 2018;98:12-26. Epub 2018 Apr 10. https://doi.org/10.1016/j.drup.2018.03.002
21. Lewis K. Multidrug tolerance of biofilms and persister cells. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2008;322:107-131. https://doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3_6
22. Cohen NR, Lobritz MA, Collins JJ. Microbial persistence and the road to drug resistance. *Cell Host Microbe.* 2013;13(6):632-642. https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.05.009
23. Lebeaux D, Ghigo JM, Beloin C. Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and fundamental aspects of recalcitrance toward antibiotics. *Microbial Mol Biol Rev.* 2014;78(3):510-543.
24. Beloin Ch, Renard S, Ghigo J-M, Lebeaux D. Novel approaches to combat bacterial biofilms. *Curr Opin Pharmacol.* 2014;18:61-68. Epub 2014 Sep 23. https://doi.org/10.1016/j.coph.2014.09.005
25. Kalia VC. Quorum Sensing inhibitors: an overview. *Biotechnol Adv.* 2013;31:224-245. Epub 2012. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.10.004
26. Li Y-H, Tian X. Quorum Sensing and bacterial social interaction in biofilm. *Sensor (Basel).* 2012;12:2519-2538. Epub 2012 Feb 23. https://doi.org/10.3390/s120302519
27. Whiteley M, Diggle SP, Greenberg EP. Progress in and promise of bacterial quorum sensing research. *Nature.* 2017;551:313. https://doi.org/10.1038/nature24624
28. Hoiby N. A short history of microbial biofilms and biofilm infections. *APMIS.* 2017;125:272-275. https://doi.org/10.1111/apm.12686
29. Grandclement C, Tannieres M, Morera S, Dessaux Y, Faure D. Quorum quenching: role in nature and applied developments. *FEMS Microbiol Rev.* 2016;40(1):86-116. Epub 2015 Oct 1. https://doi.org/10.1093/femsre/fuv038
30. Rabin N, Zheng Y, Opoku-Temeng C, Du Y, Bonsu E, Sintim HO. Agents that inhibit bacterial biofilm formation. *Future Med Chem.* 2015;7:647-671. https://doi.org/10.4155/fmc.15.7
31. Romanova YuM, Tutelyan AV, Sinitzin AP, Pisarev VM, Alekseeva NV, Filipova NI, et al. Enzymes from carbohydrase group destroy biofilm matrix of gram-positive and gram-negative bacteria. *Medical Alphabet. Dentisty.* 2019;4:40-46.
32. Ryjenkov DA, Tarutina M, Moskvin OV, Gomelsky M. Cyclic guanilat is a ubiquitous signaling molecule in bacteria: insights into biochemistry of the GGDEF protein domain. *J Bacteriol.* 2005;187(5):1792-1798. https://doi.org/10.1128/JB.187.5.1792-1798.2005
33. Mann EE, Wozniak DJ. Pseudomonas biofilm matrix composition and niche biology. *FEMS Microbiol Rev.* 2012;36:893-916. Epub 2012 Jan 23. https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00322.x
34. Teschler JK, Zamorano-Sanchez DZ, Utada AS, Warner ChJA, Wong CL, Linington RG, et al. Living in the matrix: assembly and control of Vibrio cholerae biofilm. *Nat Rev Microbiol.* 2015;13:255-268. https://doi.org/10.1038/nrmicro3433

35. Koo H, Allan RN, Howf RP, Hall-Stoodley L, Stoodley P. Targeting microbial biofilms: current and perspective therapeutic strategies. *Nat Rev Microbiol*. 2017;15(12):740-755. Epub 2017 Sep 25. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.99

36. Femicola S, Paiardini A, Giardina G, Rampioni G, Leoni L, Gutruzzola F, et al. In silico discovery and in vitro validation of catechol-containing sulfonohydrazide compounds as potent inhibitors of diguanylate cyclase PleD. *J Bacteriol*. 2015;198:147-156. Print 2016 Jan 1. https://doi.org/10.1128/JB.00742-15

37. Marques Ch, Morozov A, Planzos P, Zelaya HM. The fatty acid signaling molecule cis-2-decenoic acid increases metabolic activity and reverts persister cells to an antimicrobial- susceptible state. *Appl Environ Microbial*. 2014;80:6976-6991. Epub 2014 Sep 5. https://doi.org/10.1128/AEM.01576-14

38. Kwan BW, Chowdhury N, Wood TK. Combatting bacterial infections by killing persister cells with mitomycin C. *Appl Environ Microbiol*. 2015;17:4406-4416. Epub 2015 May 18. https://doi.org/10.1111/1462-2920.12873

39. Chowdhury N, Wood TL, Martinez-Vazquez M, Garcia-Contreras R, Wood TK. DNA-crosslincercisplatin eradicates bacterial persister cells. *Biotechnol Bioeng*. 2016;113:1984-1992. Epub 2016 Mar 10. https://doi.org/10.1002/bit.25963

40. Garrison AT, Abouelhassan Y, Kallifidas D, Bai F, Ukhanova M, Mai V, et al. Halogenated phenazines that potently eradicate biofilms MRSA persister cells in non-biofilm cultures, and Mycobacterium tuberculosis. *Angew Chem Int Ed*. 2015;54:14819-14823. https://doi.org/10.1002/anie.201508155

41. Ilyina TS, Tolordava ER, Romanova YuM. Phage Therapy: One hundred Years after the Discovery of Bacteriophages. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2019;134(No3):149-158. https://doi.org/10.3103/S0891416819030042

42. Gordello Altomirano FL, Barr JJ. Phage therapy in the postantibiotic era. *Clin Microbial Rev*. 2019;32(2):E00066-18. Print 2019 Apr. https://doi.org/10.1128/CMR.00066-18

43. Chan BK, Abedon ST, Loc-Carrillo C. Phage coctails and the future of phage therapy. *Future Microbiol*. 2013;8:769-783. https://doi.org/10.2217/fmb.13.47

44. Chen J, Novick RP. Phage mediated intergeneric transfer of toxin genes. *Science*. 2009;323:139-141. https://doi.org/10.1038/s41551-019-0419-y

45. Casey E, Van Sinderen D, Mahony J. In vitro characteristics of phages to guide «real life» phage therapy suitability. *Viruses*. 2018;10:E163. https://doi.org/10.3390/v10040163.

46. Philipson C, Voegtly L, Luedor M, Long K, Rice G, Frby KG, et al. Characterizing phage genomes for therapeutic applications. *Viruses*. 2018;10:188. https://doi.org/10.3390/v10040188

47. Viertel TM, Ritter K, Horz HP. Viruses versus bacteria — novel approaches to phage therapy as a tool against multidrug resistant pathogens. *J Antimicrob Chemother*. 2014;69:2326-2336. https://doi.org/10.1093/jac/dku173

48. Wang Z, Zheng P, Ji W, Fu Q, Wang H, Yan Y, et al. SLPW: a virulent bacteriophage targeting methicillin resistant Staphylococcus aureus in vitro and in vivo. *Front Microbiol*. 2016;7:934.

49. Jault P, Leclerc T, Jennes S, Pirney JP, Que Y-A, Resch G, et al. Efficacy tolerability of a cocktail of bacteriophages to treat burn wounds infected by Pseudomonas aeruginosa (Phagoburn): a randomized, controlled, double-blind phase $^{1}/_{2}$ trial. *Lancet Infect Dis*. 2019;19:35-45. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30482-1

50. Roach DR, Leung CY, Henry M, Morello E, Singh D, Di Santo JP, et al. Synergy between the host immune system and bacteriophage is essential for successful phage therapy against an acute respiratory pathogen. *Cell Host Microbe*. 2017;22:38-47. https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.06.018

51. Maciejewska B, Olszak T, Drulis-Kawa Z. Application of bacteriophages versus phage enzymes to combat and cure bacterial infections: an ambitious and also a realistic application? *Appl Microbiol Biotechnol*. 2018;102:2563-2581. Epub 2018 Feb. https://doi.org/10.1007/s00253-018-8811-1

52. Bedi MS, Verma V, Chibber S. Amoxicillin and specific bacteriophage can be used together for eradication of biofilm of Klebsiella pneumoniae B5055. *World J Microbiol Biotechnol*. 2009;25:1145. Epub 2009 Oct 4. https://doi.org/10.1093/jac/dkp360

53. Mushtaq N, Redpath MB, Luzio JB, Taylor PW. Treatment of experimental Escherichia coli infections with recombinant bacteriophage-derived capsule depolymerase. *J Antimicrob Chemother*. 2005;56:160-165. Epub 2005 May 24. https://doi.org/10.1093/jac/dki177

54. Briers Y, Lavigne R. Breaking barriers: expansion of the use of endolysins as novel antibacterials against gram negative bacteria. *Future Microbiol*. 2015;10:377-390. https://doi.org/10.2217/fmb.15.8

55. Yang H, Wang M, Yu J, Wei H. Antibacterial activity of a novel peptide-modified lysine against Acinetobacter baumanii and Pseudomonas aeruginosa. *Front Microbiol*. 2015;6:1471.

56. Briers Y, Walmagh M, Van Payenbroeck V, Cornellissen A, Cenens W, Aertsen A, et al. Engeneered endolysin-based «artilysins» to combat multidrug-resistant gram-negative pathogens. *mBio*. 2014;5:e01379. https://doi.org/10.1128/mBio.01379-14

57. Rashel M, Uchiyamo J, Ujihara T, Uthara Y, Kuramoto S, Sugihara S, et al. Efficient elimination of multidrug-resistant Staphylococcus aureus by cloned lysine derived from bacteriophage phi MR11. *J Infect Dis*. 2007;196:1237-1247. https://doi.org/10.1086/521305

58. Daniel A, Euler C, Collin M, Chahales P, Gorelick KJ, Fischetti VA. Synergism between a novel chimeric lysine and oxacillin protects against infections by methicillin-resistant Staphylococcus aureus. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54:1603-1612. Epub 2010 Jan 19. https://doi.org/10.1128/AAC.01625-09

59. Mahichi F, Synnott AJ, Yamamichi K, Ocada T, Tanyi Y. Site-specific recombination of T2 phage using IP008 long fiber genes provides a targeted method for expanding host range while retaining lytic activity. *FEMS Microbiol Lett*. 2009;295:211-217. https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01588.x

60. Lu TK, Collins W. Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. *Proc Nat Acad Sci*. 2007;104:11197-11202. https://doi.org/10.1073/pnas.0704624104

61. Yacoby I, Bar H, Benhar I. Targeted drug-carrying bacteriophages as antibacterial nanomedicines. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51:2156-2163. Epub 2007 Apr 2. https://doi.org/10.1128/AAC.00163-07

62. Hope CK, Packer S, Wilson M, Nair SP. The inability of bacteriophage to infect Staphylococcus does not prevent it from specifically delivering a photosensitizer to the bacterium anabling its lethal photosensitization. *J Antimicrob Chemother*. 2009;64:59-61. Epub 2009 May 2. https://doi.org/10.1093/jac/dkp157

63. Dong S, Shi H, Zhang X, Chen X, Cao D, Mao Ch, et al. Difunctional bacteriophage conjugated with photosensitizers for Candida albicans-targeting photodynamic inactivation. *Int J Nanomed (Lond.)*. 2018;13:2199-2216.

64. Wang G, Li X, Zasloff M. A database view of naturally occurring antimicrobial peptides: nomenclature, classification and amino acid sequence analyses. IN Antimicrobial peptides: discovery, design and novel therapeutic strategies. (Oxfordshire:CAB1). 2010;1-21. Epub 2009 Nov 17. https://doi.org/10.1016/j.bios.2009.11.012

65. Bergland NA, Piggot TJ, Jafferies D, Sessions RB, Bond PJ, Khalid S. Interaction of the antimicrobial peptide polymycsin B1 with both membranes of E.coli: a molecular dynamic study. *PLoS Comput. Biol*. 2015;11:e1004180.

66. Pfalzgraff A, Brandenburg K, Weindl G. Antimicrobial peptides and their therapeutic potential for bacterial skin infections ad wounds. *Front Pharmocol*. 2018;9:281. eCollection 2018. https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00281

67. Pepperney A, Chikindas ML. Antibacterial peptides: opportunity for the prevention and treatment of dental casies. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2011;3:68-96. https://doi.org/10.1007/s12602-011-9076-5

68. Wang Zh, Shen Y, Hanpaasalo M. Antibiofilm peptides against oral biofilms. *J Oral Microbiol*. 2017;9:1327. eCollection 2017. https://doi.org/10.1080/20002297.2017.1327308

69. Bjorn C, Mahlapuu M, Mattsuby-Baltzer I, Hakansson J. Antiinfective efficacy of the lactoferrin-derived antimicrobial peptid HLRlr. *Peptides*. 2016;81:21-28. Epub 2016 May 4. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2016.04.005

70. Pletzer D, Hancock REW. Antibiofilm peptides: potential as broad-spectrum agents. *J Bacteriol*. 2016;198:2572. Print 2016 Oct 1. https://doi.org/10.1128/JB.00017-16

71. Gomes B, Augusto M, Felicio MR, Hollmann A, Franco OL, Gonsalves S, Santo NC. Designing improved active peptides for therapeutic approaches against infection diseases. *Biotechnol Adv*. 2018;36:415-429. Epub 2018 Jan 9. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.01.004

72. Mulani MS, Kamble EE, Kumkar ShN, Tawre MS, Pardesi KR. Emerging strategies to combat ESCAPE pathogens in the era of antimicrobial resistance: a review. *Front Microbiol*. 2019;10:1-24. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00539

73. Hilpert K, Volkmer-Engert R, Walter T. High-throughput generation of small antibacterial peptides with improved activity. *Nat Biotechnol*. 2005;23:1008-1012. Epub 2005 Jul 24. https://doi.org/10.1038/nbt1113

74. Kanthaweng S, Bolscher JG, Veerman ECI, van Marie J, de Soet JJ, Nasmi K, et al. Antimicrobialand antibiofilm activity of LL-37 and its truncated variants against Burkholderia pseudomallei. *Int J Antimicrobb Agents*. 2012;39:39-44. Epub 2011 Oct 17. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.09.010

75. Batoni G, Maisetta G, Bremcatisano FL, Esin S, Campa M. Use of antimicrobial peptides against microbial biofilms: advantages and limits. *Curr Mol Chem*. 2011;18:256-279. https://doi.org/10.2174/092986711794088399

76. Dai T, Huang YY, Hamblin MR. Photodynamic therapy for localized infections — state of art. *Photodeagnosis Photodyn Ther*. 2009;6:170-188. https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2009.10.008

77. Abrahamse H, Hamblin MR. New photosintizers for photodynamic therapy. *Biochem J*. 2016;473:347-364. https://doi.org/10.1042/BJ20150942

78. Hamblin MR, O'Donnell DA, Murthy N, Rajagopalan K, Michaud N, Sherwood ME, et al. Polycationic photosensitizer conjugates: effects of chain length and Gram classification on the photodynamic inactivation of bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 2002;49:941-951. https://doi.org/10.1093/jac/dkf053

79. Hamblin MR, Abrahamse H. Inorganic salts and antimicrobial photodynamic therapy: Mechanistic conundrums? *Molecules*. 2018;23:pii: E3190. https://doi.org/10.3390/molecules23123190

80. Tiganova IG, Makarova EA, Meerovich GA, Alekseeva NV, Tolordava ER, Romanova YuM, et al. Photodynamic inactivation of pathogenic bacteria in biofilms using new synthetic bacteriochlorin derivatives. *Biomedical Photonics*. 2017;6(4):27-36. https://doi.org/10.24931/2413-9432-2017-6-4-27-36

81. Dai T, Tegos GP, Lu Z, Huang L, Zhiyentayev T, Franklin MJ, et al. Photodynamic Therapy for Acinetobacter baumannii Burn Infections in Mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2009;53(9):3929-3934. https://doi.org/10.1128/AAC.00027-09

82. George S, Hamblin MR, Kishen A. Uptake pathways of anionic and cationic photosensitizers into bacteria. *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2009;8(6):788-795. https://doi.org/10.1039/B809624D

83. Meerovich GA, Akhlyustina EV, Tiganova IG, Lukyanets EA, Makarova EA, Tolordava ER, et al. Novel polycationic photosensitizers for antibacterial photodynamic therapy. Advances in Microbiology. *Infectious Diseases and Public Health*. 2019; Eds. Donelli J. https://doi.org/10.1007/5584_2019_431

84. Al-Shammery D, Michelogiannakis D, Ahmed ZU, Ahmed HB, Rossouw PE, Romanos GE, et al. Scope of antimicrobial photodynamic therapy in Orthodontics and related research: A review. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019;25:456-459. Epub 2019 Jan 7. https://doi.org/10.1111/jicd.12388

85. Brown S. Clinical antimicrobial photodynamic therapy: phase II studies in chronic wounds. *J Natl Compr Canc Netw*. 2012;10:80-83.

Поступила в редакцию 12.01.2021

Received 12.01.2021

После доработки 17.01.2021

Revised 17.01.2021

Принята к публикации 19.01.2021

Accepted 19.01.2021